

優先権主張
 国名 フランス国
 出願(1972年) 5 月 21 日
 出願番号 京 7215996 号
 特許請求の範囲 1 項
 出願日 1972 年 5 月 21 日
 出願先 国 法 国



優先権主張書

⑬ 日本国特許庁

公開特許公報

特 許 願

昭和48年5月1日

特許庁長官 三 宅 幸 夫 殿

- 発明の名称 カイロウ
改良されたL-リジンポリマーの製造方法
- 発明者
住 所 フランス国リ・オランギ・エジソンヌ・リュドゥベラン3
氏 名 ロドルフ・マルグラッフ (ほか1名)
特許出願人
住 所 フランス国パリ8エーム・アグエニュー
モンテニム22
名 義 ロー・ブーラン・エヌ・ア
(氏名)
代 表 者 追 完
国 籍 フランス国
4. 代 理 人 ヤ107
住 所 東京都港区赤坂1丁目9番15号
日 本 自 転 車 会 館
氏 名 0077 青 嶋 小 田 島 平 吉
電 話 585-2256

①特開昭 49-48785

④公開日 昭49.(1974)5.11

②特願昭 48-47687

③出願日 昭48.(1973)5.1

審査請求 未請求 (全2頁)

庁内整理番号

⑤日本分類

7133 45

7215 45

6793 44

266E111

266E02

30 C4

明 細 書

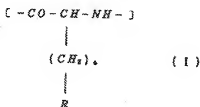
1. 【発明の名称】

改良されたL-リジンポリマーの製造方法

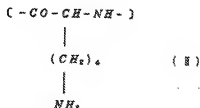
2. 【特許請求の範囲】

50より多い繰り返し単位をもつL-リジンポリマーを-NH₂基と反応することのできる試薬と既知の方法で反応させて、-NH₂基を-R基に変えることを特徴とする。

本質的に式：

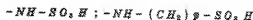


の繰り返し単位と式：



の繰り返し単位とから成る改良されたL-リジンポリマー

〔但し、式(1)の繰り返し単位の全数がnであつた式(2)の繰り返し単位の全数がmであつて、n+mが50より大きい、但し、mは0であつてもよい、また各R基は、同一であつても相異なつていてもよく、次の基のうちの1つを換へす：



〔但し、 α は1〜4である場合を除く〕；
 $-NH-(CH_2)_2-COOH$ ； $-NH-CO-$
 CH_2-CH_2-OH ； $-NH-CO-(CH_2)_2-$
 SO_3H ； $-NH-CO-NH_2$ ； $-NH-C-NH_2$ ；
 $-OH$ および $-N(CH_2)_2$ $\begin{smallmatrix} NH \\ | \end{smallmatrix}$

の製造方法。

3. 〔発明の詳細を説明〕

本発明はポリ（改良されたL-リジン）の製造方法に関する。

塩基性 α -アミノ酸ポリマーの非常に多様な生理学的性質は、特に当分野におけるKatschalskyによる独創的研究の結果として、数年前から知られてきている。天然の α -アミノ酸から誘導されるホモポリマーのポリ（塩基性 α -アミノ酸）の中で、 ϵ -位のNH₂基が4個のメチレン基によ

りポリペプチド鎖からはなれているポリ（L-リジン）は、鎖により近いNH₂基を有するポリマーに比較して、種々の生理学的効果が最も顕著である立体配置をもつ。これらの効果は特に次のことに關する：

- a) 非常に広いpH範囲にわたって、特に1.7程度の酸性のpHに対して、ペプシンの酵素活性の阻害、
- b) 筋肉のホスホリラーゼとの相互作用、
- c) ポリスクレオチドホスホリラーゼの活性化、
- d) リボタンパクリパーゼの阻害、
- e) 高濃度を用いた場合酸化型に対して阻害効果をもたらす逆に低濃度を用いた場合は活性化効果をもつテトロクローム酸化酵素の阻害、

f) ATPアーゼに対するe)に類似の効果、

g) 血漿アルブミンとの相互作用、

h) ヒストン類似効果をもつ天然および人工の複製の錯体形成、リボ核酸合成の阻害および生きている細胞の染色体機能の制御、

i) インフルエンザおよび天然痘ウイルスの、およびニューカッスル病のウイルスの増殖の抑制ならびに寄離蛋白質のウイルスに対するマウスおよび猿の生体内での保護、

j) 大腸菌ファージT₂、T₄およびT₅のようなバクテリオファージの不活性化、

k) エールリツヒ細胞およびアデノカルシノマT₄3の抑制をもつ抗腫瘍効果、

l) 多数の微生物の増殖および発酵の抑制およびその結果としての防腐作用および殺菌効果、

m) 補体結合、

n) 抗ヘパリン効果と組合わさつたトロロンBの生成を阻害することによる血液凝固活性、および

o) 血拴への凝集活性

逆の効果が共存するとき、性質の強さおよび、時には、方向はポリ（L-リジン）分子の外側に現われているNH₂基の存在および配置と密接に關係しており、この後者の配置はある実験条件下で現われる誘発したペプチド結合の水素原子と酸素原子との間の水素結合によるらせん形に現われている。

多くの上述の性質は、ポリ（リジン）の ϵ -アミノ基の電荷と逆の電荷をもつカルボキシル基とを与える連続な量のポリ（アスバラギン酸）またはポ

リ(グルタミン酸)をポリ(L-リジン)が伴うとき、選択的に、改良されたり、減少したり、除去されたりあるいは逆に増えたりすることがある。しかしながら、電荷の非化学的中和からの結果としての生理学的効果は媒質のイオン強度に非常に鋭敏である。その理由は塩溶液が2つのポリマーの鎖の間にそれ自身はいり込みまたポリペプチド端体のポリ電解質特性から由来する効果を抑制させるからである。

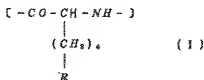
同様に、 α -カルボキシ基を有する α -アミノ酸(グルタミン酸またはアスパラギン酸)とL-リジンの共重合によりカルボキシ基が与えられるとき、いくつかの性質が変化するが、この場合、ポリペプチド鎖のらせん形の性質に関連している性質は鎖全体にばらまかれた種々の単位が存在に

より影響される; 突如において、分子の外側でのイオン性質の出現が分子のらせん形に密接に関連しているということを考慮すると、このらせんの一様性は分子の生理学的性質に対して大きな影響をもつということがわかる。

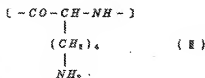
本発明者等は、本発明にしたがえば、媒質のイオン強度に鋭敏である逆符号の電荷を有するホモポリマーの混合物を用いることによつてでなく、また分子のらせん構造を変える α -位に酸基を有する α -アミノ酸の共重合によつてでなく、相反する基を与えるような表面化学反応を本質的に用いることにより所望の割合でポリ(L-リジン)の側鎖のNH₂基を修正することにより、上述の生理学的効果を改良することが有利であるということを見出した。可能な反応の中で、最も有利

なものは、スルホン酸またはカルボン酸基による負電荷を導入することを可能にする反応、もしくは塩基の塩基性、あるいは分子の両親媒性特性を変えることを可能にする親水性基をそのまま保持するか除去するかの反応である。

本発明に従つて、式:

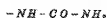
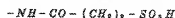
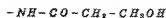
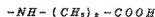


の繰り返し単位と式



の繰り返し単位とから本質的になるL-リジンポリマー

(但し、式(I)の繰り返し単位の全数は n であり、式(II)の繰り返し単位の全数は m であつて、 $n+m$ が50より大きく、好ましくは2,000より大きいものであり、 m は0であつてもよく、また式中、各基は、同一であつても相異なつていてもよく、次のものを撰出す:





または



が提供される。

種々の基-Rは、 $-NH_2$ 基をこれらの基-Rのうちの1つに変える既知の任意の方法を適用することにより、ポリ(L-リジン)の分子上に、生成させることができる。

このように、例えば、アミノ基をピリジン-無水炭酸鹽体のような適当なスルホン化剤との反応によりスルホン化して $-NH_2SO_3H$ 基を与えることができ、またそれぞれスルホンまたは無水β-スルホプロピオン酸との反応によりアミノ基を $-NH(CH_2)_2SO_3H$ または $-NHCO$

の方法の詳細は以下の実施例で述べる；類似の方法を、もちろん使用できる。

種々の基Rの性質と相対的割合は、所望の生理学的効果を与えるような方法で調節することができる。逐次的にあるいは同時に、各々の基を独立に制御された程度に導入することが可能である。さらに、ポリ(L-リジン)は、それが50以上の繰り返し単位を含むならば、任意の分子量であることができる。

本発明に従って得られるポリマーは、生物のイオン強度と酸性度とに対応するそれをもつ水溶液（pHがほぼ7.35でイオン強度がNaClに関してほぼ0.150M）中に可溶であり、ヘパリノイドまたはヒルディノイドのような既知の構造の生成物の非凝固活性と逆の新しい型の非凝固活性

$(CH_2)_2SO_3H$ 基に変えることができる。

酸性条件下ではβ-プロピオラクトンとの反応により $-NH(CH_2)_2COOH$ 基を生じさせることができ、一方、塩基性条件下では $-NHCOCH_2CH_2OH$ 基を生じさせることができる。

無機イソシアネ酸塩との反応により $-NH-CO-NH_2$ を生成させることができ、一方、 $-NH-C-NH_2$ 基は硫黄5-メチル-イソチオクロ

ニウムとの反応により生成させることができる。

$-NH_2$ 基を、例えばポリマーのホルムアルデヒドおよびギ酸との反応により、2つのメチル基で置換させることができる。例えば無硫酸ナトリウムと臭化水素酸とを用いて亜硫酸でアミノ基をヒドロキシル基に変えることができる。さらにこれら

をもつ。さらに、適当な2官能性化合物との反応により、あるいはε-位にある基の相互の反応を助けることにより、ε-位にある基の分子内交差結合によつて、ポリマーを顆粒、フィルムおよびラツカーの形で不溶性にすることができる。可溶性な生成物をまた、同じ基によつて反応性の場所を有する表面上に、上述の改変された生理学的性質を表面に与えるために、固定させることができる。その生理学的性質のうちで、最も価値があるのは上述の成分で製造された表面とタンパク質および血液凝固系の酵素の適合性である。

特に価値ある場合は $R=-NH-SO_3H$ のときで、それが制御されて導入されると、全体の非凝固効果を維持しながら血栓に対する凝集効果を除去くことを可能にする。

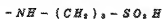
本発明に従う改良されたL-リジンの重合体は従つて、生薬学的体液と接触することを意図されている製品あるいは被覆を製造するのに用いることができる。それらはまた、ヘパリンを主剤とする組成物に類似して抗凝固剤として治療に用いることのできる適当な製剤上の相体または希釈剤を含む薬劑組成物を製造するのに用いることができる。

次の実施例は本発明をさらに説明する。

実施例 1

炭酸カリウム (2.7g) とプロパンスルホン (1.22g) とを水 (100cc) 中のポリ (L-リジン臭化水素塩) (約 4,000 L-リジン単位に等しい重合度をもつ) (2.3g) の溶液に加えらる。

単位と 17 号の、R が式：



である式 (I) の単位とから成るポリ (スルホプロピル化 L-リジン) (0.8g) が得られる。

実施例 2

実施例 2 の手順に従つて、溶液を 5 時間加熱した後、 K_2CO_3 (70g) とプロパンスルホン (1.22g) とをそれに加え、全体を 50℃ に 5 時間放置する；この操作の操作を 5 回繰り返す。

透析、沈殿および乾燥の後、R が基



である 100% の式 (I) の単位とから成る完全にスルホプロピル化ポリ (L-リジン) (1.0g) が得られる。

50℃ に 3 時間加熱後、プロパンスルホン (さらに 1g) を加え、50℃ で加熱を 8 時間続ける。次いで溶液を再生セルロース膜を通して蒸留水 (10L) に対して 48 時間透析し、次いでエタノールを加えることによりポリマーを沈殿させ、乾燥する。61% の式 (I) の単位と 39% の、R が式：



の基である式 (I) の単位とから成るポリ (スルホプロピル化 L-リジン) (1.0g) がこうして得られる。

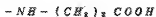
実施例 3

3.75g の炭酸カリウムを用いて実施例 1 の手順を繰り返す；混合物を 50℃ で 5 時間加熱する。透析、沈殿および乾燥の後、83% の式 (I) の

実施例 4

塩化メチレン (50ml) と凍結乾燥したポリ (L-リジン) 塩基 (4,000 の重合度をもつ) (0.385g) とから成る攪拌されている懸濁液に β-プロピオラクトン (9.5ml) を加え、全体を 20℃ で 20 時間攪拌する。次いで固体物質を濾過して取り、ジエチルエーテルで洗い乾燥する。乾いた生成物 (0.280g) を得、それを塩酸で 0.1N 塩酸水溶液 (50cc) 中で 3 日間攪拌する。こうして得た溶液を濾過し、次いで再生セルロース膜を通して蒸留水 (10L) に対して透析する。保持された分量を凍結乾燥すると (L-リジン) -[N-(3-(2-カルボキシエチル)-L-リジン)]_{0.185} とを与え、それは水に可溶であり、また 72.5% の式 (I) HCl の

単位と 27.5% の、R が基



である式 (I) の単位とから成る。

実施例 5

ポリ (L-リジン臭化水素塩) (4.000 の重合度をもつ) (0.45 g) を蒸留水 (25 cc) に溶解し、溶液を浴中で 0℃ に冷却し、1 N NaOH の水溶液 (2.15 cc) を攪拌しながら滴下して入れる。β-プロピオラクトン (0.27 cc) を加え、室温で混合物を 90 時間攪拌する。溶液を蒸過し、次いで再生セルロース膜を通して蒸留水 (10 L) に対して 48 時間透析する；保持された分量を次いでメタノールを加えて沈殿させ、ジエチルエーテルで洗ひ乾燥する。こうして、[N-ε-(3-ヒドロキシプロピオン)-L-リジン]-

イド-L-ノルロイシン] (0.7 g) が得られ、それは水に可溶であり、25% の式 (I)・HBr の単位と 75% の、R が基 $-NH-CO-NH_2$ である式 (I) の単位とから成る。

同じ条件下で、シアン化カリウムが 20 時間作用した後、シアン化カリウム (0.45 g) の添加を繰り返し、混合物を再び 20℃ で 20 時間放置する。透析、沈殿および乾燥の後、得られるポリ [ε-クレイド-L-ノルロイシン] は R が $-NH-CO-NH_2$ である 100% の式 (I) の単位を含む。

実施例 7

水 (20 cc) 中の $NaNO_2$ (1.0 g) の溶液を、0℃ に冷却されている 0.1 N の臭化水素酸の水溶液 (50 cc) 中のポリ (L-リジン臭化水素

[N-ε-(2-カルボキシエチル)-L-リジン] コポリマー (0.30 g) を得、それは水に可溶であり、またもつばら式 (I) の単位から成り、R が 75% の単位中で基 $-NH-CO-CH_2-CH_2OH$ でまた 25% の単位中で基 $-NH-(CH_2)_2-COOH$ である。

実施例 6

ポリ (L-リジン臭化水素塩) (4.000 の重合度をもつ) (1.05 g) を蒸留水 (40 cc) に溶解し、水から新しく再結晶したシアン化カリウム (0.45 g) を加え、全体を 20℃ で 20 時間攪拌する。溶液を再生セルロース膜を通して蒸留水 (10 L) に対して 48 時間透析し、保持された分量をメタノール中で沈殿させ、乾燥する。

こうしてポリマー-[L-リジン]-[ε-クレ

イド] (4.000 の重合度をもつ) (1.045 g) の溶液に加える。

混合物を室温で 20 時間放置して反応させる。溶液を再生セルロース膜を通して蒸留水 (20 L) に対して 48 時間透析し、次いで保持された分量をエタノール中で沈殿させ、乾燥する。

こうして 12% の式 (I)・HBr の単位と R-が-OH 基を喪失す 88% の式 (I) の単位とから成る [L-リジン]-[ε-ヒドロキシ-L-ノルロイシン] コポリマー (0.8 g) が得られる。

実施例 8

ポリ (L-リジン臭化水素塩) (4.000 の重合度をもつ) (1.254 g) を蒸留水 (100 cc) 中に溶解する。

固ホウ酸ナトリウム ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) (6g) を得られた酸んだ溶液に加え、次いで全体を0℃に冷却し、 NaOH の1N水溶液を加えることによりpHを9.8に調整する。

ビリジン無水硫酸鹽体 (2.0g) (*Inorganic Synthesis*, II, p. 173 に従つて製造した) を次いで加え、温度を0℃に、また0.1Nの NaOH 水溶液を加えることによりpHを9.8に保ちながら混合物を激しく攪拌する。すべての錯体が溶解したとき、またpHがもはや変化しないとき、反応は完了する。

溶液をろ過し、再生セルロース膜を通して蒸留水 (2×10L) に対して透析し、次いでN/10の異化水素酸水溶液 (10L) に対して、また再び蒸留水 (2×10L) に対して透析する。次いで 10^5 ダルトンよりも大きい粒子を保持する

膜をエチルエーテルで洗い、 NaOH の1N水溶液 (100cc) 中に取る。

限外ろ液のpHが7になるまでアミコンXM 100膜 (10^5 ダルトンよりも大きい粒子を保持する) を通して限外ろ過した後、生成物を凍結乾燥する。

もつてRが $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ である式 (I) の単位から成るポリ[ε-グメチルアミン-L-ノロイシン] (1g) がこうして得られる。

実施例 10

実施例8の手順に従つて、ビリジン-無水硫酸鹽体 (1.2g) を加え、温度を0℃に、また1N NaOH 溶液を加えることによりpHを9.8に保持しながら、混合物を激しく攪拌する。

2時間後、錯体 (1.2g) の添加を繰り返し、

アミコン (AMICON) XM100膜を通して限外ろ過により、生成物を320ccから300ccに濃縮し、凍結乾燥する。こうして20%の式 (I) の単位とRが $-\text{NHSO}_3\text{H}$ である80%の式 (I) の単位とから成る[L-リジン]-[ε-スルファミノ-L-ノロイシン] コポリマー (1.0g) を得る。

実施例 9

凍結乾燥したポリ(L-リジン) 塩基 (4.000 の重合度をもつ) (1.3g) を室温で攪拌しながら酸 (100cc) 中に溶解する。

次いでホルムアルデヒドの30%水溶液 (2cc) を加え、全体を35℃で1時間加熱する。30%ホルムアルデヒド溶液 (さらに2cc) を加え、加熱を35℃で1時間続ける。真空中で酸を追い出し、

温度とpHとを上述のように保持する。さらに2時間後、ビリジン-無水硫酸鹽体 (1.2g) を3回目で加えた後 (全体で3.6gを加えた)、pHを9.8に2時間保持する。次いで混合物を0℃で15時間放置し、実施例8におけるように精製する。

Rが $-\text{NHSO}_3\text{H}$ である100%の式 (I) の単位から成るポリ[ε-スルファミノ-L-ノロイシン] (1.160g) を得る。

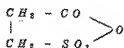
リジン基がないことは Sanger, Biochem. J., 39, 507 (1945) によるジエトロフェニル化により証明される。

実施例 11

ポリ(L-リジン異化水素塩) (4.000の重合度をもつ) (0.209g) を蒸留水 (15cc)

に溶解する。亜ホウ酸ナトリウム ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) (0.5 g) を得られた澄んだ溶液に加え、次いで全体を0℃に冷却し、1N水酸化ナトリウム溶液を加えることによりpHを9.8に調節する。

Kharasch, M. S. ち, J. Am. Chem. Soc., 62, 2393 (1940) に従つて製造された式:



の無水β-スルホプロピオン酸を次いで6つの等量ずつ加え、その間温度を0℃に、また1N水酸化ナトリウム溶液 (20 cc) を加えることによりpHを9.8に保持する。

ながら、トリエチルアミン (0.3 cc) を滴下して、
緩慢に水を加える。

2-ヒドロキシカルボニル-エタン-スルホン酸ナトリウム1水塩 (4.16 g) を0℃で1N塩酸 (50 cc) 中に溶解させる。亜硫酸ナトリウム (3.45 g) を少量ずつ加え、混合物を0℃で30分間放置して反応させる。次いで過剰の亜硫酸を塩素気流下で除去する。こうして得られる澄んだ溶液を上で製造したゲルに加える。混合物を攪拌しながら0℃に1時間保ち、得られる澄んだ溶液を20℃で15時間放置し、次いで10N水酸化ナトリウム溶液を加えることによりpH13に調節する。次いで生成物を実施例11に示したように膜外通過で精製する。

凍結乾燥の後、25%の式(Ⅱ)の単位と75

反応はpHがもはや変化しないとき完了する。

澄んだ溶液を次いで10⁵ ダルトンより大きい分子量の塩質を保持する膜外通過膜を通して膜外通過する。保持された分量を、膜外通過液が10⁵ cmより大きくなるまで蒸留水で希釈する。

保持された分量を次いで凍結乾燥する。こうして、75%の式(Ⅱ)の単位と25%の、Rが-NHCO(CH₂)₂SO₂Hを表わす式(Ⅰ)の単位とを含む[L-リジン]-[ε-(3-スルホプロピオニル)-L-リジン]コポリマー (0.168 g) が得られる。

実施例 12

ポリ(L-リジン臭化水素塩) (4.000 g) の重合度をもつ (0.209 g) を水 (15 cc) に溶解させる。得られる澄んだ溶液に、0℃に冷却し

61 %の、Rが-NHCO(CH₂)₂SO₂Hである
61 式(Ⅰ)の単位とから成る[L-リジン]-[ε-(3-スルホプロピオニル)-L-リジン]コポリマー (0.254 g) を得る。

2-ヒドロキシカルボニル-エタン-スルホン酸ナトリウム1水塩を次のように得る:

0.2Mナトリウムエタラト (500 cc) を0℃で無水テトラヒドロフラン中の無水β-スルホプロピオン酸 (1.36 g) に加える。沈殿を得る。洗浄および乾燥後、2-エトキシカルボニルスルホン酸ナトリウム (26 g) を得る。

ヒドロジン水和物 (6 cc) と蒸留水 (9 cc) とをその生成物 (1.14 g) に加える。混合物を室温下で2時間加熱し、次いで混合物を濃縮しながら、水 (26 cc) とエタノール (75 cc) とを加

える。冷却後、生成物が沈殿する。伊通および乾燥後、2-ヒドラジノカルボニルエタンスルホン酸ナトリウム1水塩(9.3g)を得る。

実施例 13

〔L-リジン〕-〔L-ホモアルギニン〕コポリマー。

ポリ(L-リジン臭化水素塩)(4000の重合度をもつ)(1.045g)、続いて固水硫酸ナトリウム($Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$)(1.9g)を逐次、20℃で蒸留水(50cc)に溶解させる。

$NaOH$ の1N水溶液(12.5cc)を次いで攪拌しながら滴下して注ぐ。この添加の間、溶液のpHは9.7から10.9に変化する。硫酸S-メチルソテオウロニウム(1.0g)をこの均一な溶液に加え、全体を攪拌しながら70℃で30分間

熱する。

溶液を20℃に冷却し、 10^{-3} ダルトンより大きい分子量の溶質を保持する膜外伊通膜を通して膜外伊通する。その際、保持される分量を、膜外伊液がもはや異電イオンを含まなくなるまで 10^{-3} N水酸化ナトリウム溶液で希釈し、次いで 10^{-3} Ωcmより大きい抵抗をもつ膜外伊液が得られるまで蒸留水で希釈する。

保持された分量を逐次乾燥すると、Rが



である50%の式(I)の単位と50%の式(II)の単位とから成る〔L-リジン〕-〔L-ホモアルギニン〕コポリマー(0.825g)が得られる。

実施例 14

実施例10に記載のように製造したポリ(ε-スルファミノ-L-ノルロイシン)の濃度を漸次増大させて存在させ、クエン酸塩を含む犬の血漿に対して次の測定を行なう。種々のデータが次のように決定された：

Biggs R.M. および Macfarlane R.G.,
血液凝固およびその障害 — Black Scientific Publications — Oxford — 1962, K従つた、
trombin 時間、
Quick A.J., J. Biol. Chem., 109, 73 (1935) K従つた、Quick (Quick) 時間、および

Lawrie M.J. と Weiland C.

[Rev. Hemat., 12, 2 (1957)] K従

つた、セファリン-カオリン時間。

比較のために、同じ方法を用いてヘパリンの効果をもこの同じ血漿に対して調べる。次の表は得られた結果を与える。

調 べ た 反 応 媒 質	測定した凝固時間(秒)		
	時 間	クイック 時 間	セファリン- カオリン時間
改良していないクエン酸液を含む血液	9.7	7.0	21.8
" " +ポリ(ε-スルファミノ- L-ノルロイシン) 15mg/L	10.6		
" " " 30	12.6	10.0	47.2
" " " 65	15.7	11.6	59.9
" " " 140	21.2	12.0	75.8
" " " 310	27.8		
" " +ヘパリン 0.15mg/L	12.3		
" " " 0.6			45.6
" " " 8		9.9	

用いた方法に拘らず、ポリ(ε-スルファミノ-L-ノルロイシン)は凝固時間の著しい延長を引き起こすことが見出される。及ぼされる抗凝固作用は、少なくとも部分的に、ヘパリンの作用(トロンビンに対する作用)と同じ型のものである。

実施例 15

イェウサギの血液(36cc)をクエン酸ナトリウムの3.8%水溶液(4cc)上に集め、全体を15℃で90Gで20分間遠心分離する。こうして得られる血漿は、血小板に塗られているが、15℃で1,400Gで10分間遠心分離される。次いで血小板の沈澱をブドウ糖を含むクエン酸緩衝液(クエン酸ナトリウム:760mg、無水ブドウ糖:120mgおよび生理学的緩液:q.s.p.100cc)

で3回洗い、最後に、グルコースとアルブミンを含むコロイド(Tyrodex)液(4cc)の中に再び懸濁させる[Kinrough = Rathross R.L.ら、J. Lab. Clin. Med., 75, 780 (1970)を参照]。

こうして得られる血小板の懸濁(0.6cc)を分光測定用のセルに入れ、コロイド液(2.4cc)を加え、続いて、3分間の攪拌の後、生理学的溶液(0.3cc)もしくは生理学的溶液中のG.D. Fasmanら、J. Am. Chem. Soc., 83, 709 (1961)に従って製造されたポリ(ε-リジン)のあるいはポリ(ε-スルファミノ-L-ノルロイシン)(実施例10)の中性溶液を加える。最後の試薬の添加の前3分間と、その後の10分間の間、600nmでの光学密度を時間

の関数として記録する。

次の表は得られた結果を要約する。

測定の間 隔	600 mμでの 光 学 密 度
最後の試薬の添加の前	0.500
0.3 ccの生理学的溶液の 添加の後10分	0.420
0.3 ccの濃度 1.1 g/Lの ポリ(L-リジン)の添加の 後10分	0.025
0.3 ccの濃度 2.2 g/Lの ポリ(ε-スルファミノ-L- ノルロイシン)の添加の後 10分	0.415

1.1 g/Lの濃度で、ポリ(L-リジン)はこ
のように血小板の非常に大きな凝集を引き起こす。

逆に、ポリ(ε-スルファミノ-L-ノルロイシ
ン)はこれらの血小板に対し、2.2 g/Lの濃度
でさえも、全然作用をもたない。

実 施 例 15

実施例14の条件に類似の条件下で、クイック
時間を、実施例6に記載したように製造した(L-
リジン)-[Nε-(2-カルボキシエチル)-
L-リジン]コポリマーの量を漸次増大させて
存在させ、クエン酸塩を含む犬の血漿について決
定する。

次の値を得る：

7.4秒	8.2	27.5 mg/L	+	凝集例4の生成物	7.4秒
"	10.4	55	"	"	"
"	11.4	82.5	"	"	"
"	13.6	110	"	"	"
"	17.5	137.5	"	"	"
"	23.6	165	"	"	"
"	30.0	206	"	"	"
"	40.6	275	"	"	"

特許出願人 ローランド・ブーラン・エス・ア

代 理 人 弁護士 小田島 平 吉

5. 添付書類の目録

- (1) 明 細 書 1 通
~~(2) 委任状及びその訳文 各 1 通~~
~~(3) 譲渡証書及びその訳文 各 1 通~~
~~(4) 譲渡・法人証明書並びにそれらの訳文 各 1 通~~
 (5) 優先権証明書及びその訳文 各 1 通

但し上記(4)及び(5)の書面は追つて補完する。

3行附録

6. 前記以外の発明者、特許出願人または代理人

- (1) 発 明 者
 フランス国オートセーヌ・プー・ラ・レーヌ・
 プールグアル・ドゥ・マルシヤルヨフル84
 氏 名 ギイ・プーラント

住 所

氏 名

住 所

氏 名

住 所

氏 名

(2) 特 許 出 願 人

住 所

名 称

(氏名)

代表者

関 係

(3) 代 理 人

住 所 東京都港区赤坂1丁目9番15号
 日 本 自 転 車 会 館

氏 名